

REC'D 06 APR 2004

WIPO

ECT

대한민국 특허청

KOREAN INTELLECTUAL
PROPERTY OFFICE

별첨 사본은 아래 출원의 원본과 동일함을 증명함.

This is to certify that the following application annexed hereto
is a true copy from the records of the Korean Intellectual
Property Office.

출원 번호 : 10-2003-0019018
Application Number

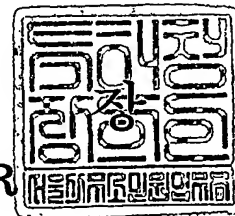
출원 년 월 일 : 2003년 03월 26일
Date of Application MAR 26, 2003

출원인 : 아미코젠주식회사
Applicant(s) AMICOGEN CO., LTD.

PRIORITY DOCUMENT
SUBMITTED OR TRANSMITTED IN
COMPLIANCE WITH
RULE 17.1(a) OR (b)

2004 년 03 월 22 일

특 허 청
COMMISSIONER



【서지사항】

【서류명】	특허출원서
【권리구분】	특허
【수신처】	특허청장
【참조번호】	0002
【제출일자】	2003.03.26
【발명의 명칭】	피니톨 또는 카이로이노시톨을 포함하는 간 질환 예방 및 치료용 조성물
【발명의 영문명칭】	Use of pinitol or chiro-inositol for preventing or treating liver diseases
【출원인】	
【명칭】	아미코젠 주식회사
【출원인코드】	1-2000-028103-1
【대리인】	
【성명】	이영렬
【대리인코드】	9-2000-000063-1
【포괄위임등록번호】	2000-061763-5
【발명자】	
【성명의 국문표기】	신용철
【성명의 영문표기】	SHIN,YONG CHUL
【주민등록번호】	600804-1927212
【우편번호】	660-773
【주소】	경상남도 진주시 주악동 한주럭키아파트 9동 104호
【국적】	KR
【발명자】	
【성명의 국문표기】	전영중
【성명의 영문표기】	JEON,YEONG JOONG
【주민등록번호】	560326-1794411
【우편번호】	134-070
【주소】	서울특별시 강동구 명일동 주공아파트 912동 705호
【국적】	KR
【발명자】	
【성명의 국문표기】	김종진
【성명의 영문표기】	KIM,JONG JIN

1020030019018

출력 일자: 2004/3/22

【주민등록번호】 711121-1923910
【우편번호】 660-921
【주소】 경상남도 진주시 금산면 장사리 1000 흥한골든빌 109-1202
【국적】 KR
【취지】 특허법 제42조의 규정에 의하여 위와 같이 출원합니다. 대리인
이영렬 (인)
【수수료】
【기본출원료】 20 면 39,000 원
【가산출원료】 0 면 0 원
【우선권주장료】 0 건 0 원
【심사청구료】 0 항 0 원
【합계】 39,000 원
【첨부서류】 1. 요약서·명세서(도면)_1통

【요약서】**【요약】**

본 발명은 피니톨(pinitol) 또는 그 유도체인 카이로이노시톨(chiro-inositol)을 포함하는 간 질환의 예방 및 치료용 조성물에 관한 것으로, 피니톨과 카이로이노시톨은 동물에게 투여되었을 때 혈청 GOT(glutamate-oxaloacetate transaminase), GPT(glutamate- pyruvate transaminase)의 농도를 낮추어 주었고, 또한 피니톨을 지방간 환자들이 복용하였을 때 GOT, GPT 및 γ GTP(γ -glutamyl transpeptidase)를 거의 정상 수준으로 회복시키는 효과가 있어 피니톨 또는 카이로이노시톨을 포함하는 본 발명의 조성물은 각종 간 질환의 예방 및 치료제로서 유용하게 사용될 수 있다.

【색인어】

피니톨, 카이로이노시톨, 간질환 예방, 조성물

【명세서】

【발명의 명칭】

피니톨 또는 카이로이노시톨을 포함하는 간 질환 예방 및 치료용 조성물{Use of pinitol or chiro-inositol for preventing or treating liver diseases}

【발명의 상세한 설명】

【발명의 목적】

【발명이 속하는 기술분야 및 그 분야의 종래기술】

<1> 본 발명은 피니톨 또는 카이로이노시톨을 포함하는 간 질환 예방 및 치료용 조성물에 관한 것으로, 지방간 환자에게 투여함으로써 간 기능을 개선시켜 결국 GOT, GPT 및 γ GTP(γ -glutamyl transpeptidase)를 거의 정상 수준으로 회복시킬 수 있는 피니톨($C_7H_{14}O_6$, 분자량 194.18)과 카이로이노시톨($C_6H_{12}O_6$, 분자량 180.16)의 용도 및 이들을 유효성분으로 포함하는 식품학적, 영양학적 또는 약학적 조성물에 관한 것이다.

<2> 근래 들어 식생활의 변화와 잦은 스트레스와 과다한 음주, 복잡한 사회적 요인에 의해 지방간 환자가 급증하고 있으며, 그 연령층도 중년 및 노년층 뿐만 아니라 청소년층에까지도 낮아지고 있는 실정이다. 지방간이란 간실질세포 내에 정상 이상으로 지질이 축적된 상태를 말하며, 콜레스테롤 지방간, 인지질 지방간 및 중성지방의 지방간으로 분류된다. 그러나 흔히 볼 수 있는 지방간은 중성지방의 간장내 비정상적인 축적에 의한 것이고, 비만, 당뇨병, 알코올, 약물의 남용 등에 의해 나타나며, 지방 및 탄수화물 대사와 관련된 효소의 결핍으로 인하여 정상간에 중성지방이 쌓여서 그 중성지방의 양이 정상간의 55% 이상인 경우를 말한다.

<3> 중성지방간의 성립은 간장내 지방합성의 증가 즉 지방산합성의 증가와

트리아실글리세롤(Triacylglycerol)의 증가, 간장내 지방이화의 감소, 저장지방으로부터 간장으로의 지방동원의 증가 및 간장으로부터 말초조직으로의 지방이동의 감소 등의 원인으로 이루어진다. 위와 같은 원인에 의해 간내에서는 지방산화가 감소되고 지방합성이 촉진되며, 간으로부터 리포프로틴(Lipoprotein)의 유리가 감소된다. 또한, 말초조직에서 지방의 이동이 증가하여 혈중지방의 간흡수가 증가되어 결국 간에 축적된다. 위의 지방간이 진행되면 간세포가 상당히 파괴되고 간세포의 재생이 중단되면서 섬유조직이 증식하여 간이 굳어져 간경화가 일어나게 된다. 이러한 지방간은 그 자체가 급속하게 다른 간장질환으로 이행하는 경우는 적으나, 지방간의 장시간 방치는 간장기능 및 생체내 지질대사의 이상을 초래할 수 있다. 또한, 지방간을 유도한 여러 병인들은 다른 질환의 원인으로 되기 때문에 조기에 이러한 제 요인들을 차단시켜 주어야 한다.

<4> 지방간을 유발하는 주요원인은 비만, 과음, 당뇨병 및 고지혈증을 들 수 있다. 현대인의 고에너지 식생활 및 복잡한 사회적 환경은 지방간을 유발할 수 있는 제 요인들을 보다 더 많이 제공해주며, 그 결과로 매년 지방간 환자가 증가하는 추세이다. 그러나 현대의학적인 치유법으로는 약물요법, 수술요법 등이 있으나 일시적인 증상을 억제하는 방법으로 근본적인 치유는 되지 않고 있다. 또한, 지방간 자체가 생체에 직접적인 자각증상을 나타내지 않고 단시간에 다른 질환으로 전이되지 않는 관계로 많은 지방간 환자들이 치유를 등한시하고 있다.

<5> 지방간이 되면 혈청 속의 GOT(glutamate-oxaloacetate transaminase),

GPT(glutamate-pyruvate transaminase), γ GTP(γ -glutamyl transpeptidase)등이 증가하게 되므로 이러한 효소들의 농도가 지방간의 유무 및 그 치료 정도의 지표로 사용된다. GOT와 GPT는 간과 심장에서 합성되는 효소로서 이들 조직이 손상되면 혈중으로 방출되는 특징을 가지고 있

으므로 간기능 검사의 대표적인 지표로써 많이 사용되고 있다. 따라서 GOT 및 GPT의 효소역가가 혈장에서 높으면 간의 손상 정도가 크다는 것을 알 수 있다.

<6> 근래 들어 다양한 간기능 개선용 천연물이나 그 추출물 등이 소개되고 있다.

<7> 하야시(Hayashi) 등은 녹차 추출액을 쥐에 투여하였을 때 혈청 GOT 및 GPT가 증가하는 것을 예방할 수 있었으며 이러한 현상이 녹차에 의한 쥐의 간 기능 개선효과로 볼 수 있다고 결론지었다(M. Hayashi 등, Nippon YakurigakuZasshi, 100, 391-399(1992)). 복성해 등은 감귤류의 껍질에 있는 나린진 및 헤스페리딘이 고콜레스테롤 식이에 의하여 지방간이 유발된 실험동물의 간기능을 정상화시키는 기능이 있음을 보고한 바 있다(대한민국 특허 공개 제 1999-76178호 및 제 1999-76179호). 이외에도 한약 소재인 제조 추출물(대한민국 특허 제 1998-156039호); 살리마린과 인진쑥 다당체 혼합물(대한민국 특허 제 1999-198490호); 백화사설초, 중루, 호장근, 산두근, 용담초, 대황, 연교, 적작약, 강황 및 석창포의 10 종의 생약 혼합물(대한민국 특허 공개 제 1999-384250호); 오리나무와 지구자 추출물의 혼합물(대한민국 제 2000-51662호); 솔잎추출물(대한민국 특허 공개 제 2001-49156호); 대두추출물(대한민국 특허 공개 제 2001-47621호); 헛개나무 추출물(대한민국 특허 공개 제 2002-78467호); 감 껍질, 미나리, 인진, 오미자, 녹두, 칩, 밤, 감초 등의 혼합물(대한민국 특허 공개 제 2002-81995호); 미당 및 대두 발효추출물(대한민국 특허공개 제 2002-21980호) 등이 간기능 개선에 효과가 있는 것으로 보고하고 있다.

<8> 그러나 이들 발명의 대부분은 천연물의 추출물로서 간기능 회복과 관련된 유효성분이 무엇인지 명확하게 규명하고 않고 있는 문제점이 있다.

【발명이 이루고자 하는 기술적 과제】

- <9> 본 발명자들은 대두로부터 분리된 피니톨이 당뇨쥐의 혈당강하에 미치는 영향을 연구하던 중 피니톨이 혈당강하 뿐만 아니라 GOT, GPT, γ GTP 등을 강하시키는 효과도 있음을 발견하였다. 이에 따라 별도의 동물실험 및 임상시험을 통하여 피니톨 및 그 유도체인 카이로이노시톨을 함유한 식이의 섭취가 간기능을 정상화시키는 작용이 있는 것을 확인하여 본 발명을 완성하였다.
- 10> 따라서, 본 발명의 목적은 피니톨, 카이로이노시톨 및 이들 화합물을 함유하는 추출물로 구성된 군으로부터 선택된 한 가지 이상의 성분을 유효량으로 포함하는 간 질환 예방 또는 치료용 식품학적 또는 약리학적 조성물을 제공하는 것이다.
- 11> 본 발명의 다른 목적은 간 질환의 예방 및 치료를 위한 식품학적 또는 약리학적 조성물 제조에 피니톨, 카이로이노시톨 및 이들 화합물을 함유하는 추출물로 구성된 군으로부터 선택된 한 가지 이상의 성분을 사용하는 방법을 제공하는 것이다.
- 12> 이하, 본 발명의 구성과 작용효과를 상세히 설명한다. 본 발명의 다른 목적들 및 잇점들은 하기 구성을 통하여 보다 명백히 이해될 것이다.

【발명의 구성 및 작용】

- 13> 본 발명에서는 지방간이 되면 혈청 속에 농도가 증가하는 GOT, GPT, γ GTP를 감소시켜 간 질환으로부터의 회복을 촉진하는 피니톨 또는 카이로이노시톨의 간질환 예방 및/또는 치료제로서의 용도가 제공된다. 또한, 피니톨 또는 카이로이노시톨을 유효성분으로 포함하는 간 질환의 예방 및/또는 치료용 조성물이 제공된다.

<14> 대두에는 여러 가지 생리활성성분들이 포함되어 있는데, 그 중에서 특히 근래에 많은 관심을 끌고 있는 성분이 제2형(인슐린 비의존형) 당뇨병 환자들에게 투여시 혈당강하 효과가 있는 것으로 알려진 피니톨과 골다공증의 치료 및 예방에 효과적인 것으로 알려진 이소플라본 성분들이다. 이 중 특히 피니톨은 제2형 당뇨병의 근본적인 문제인 인슐린 저항성을 개선하여 줌으로써 혈당강하 뿐만 아니라 비만, 고지혈증, 고혈압 등 대사성 질환의 치료 및 예방에 효과가 있는 것으로 알려졌다. 본 발명자들은 피니톨이 이러한 알려진 기능 이외에도 대표적인 당뇨병합병증의 하나인 백내장의 예방 및 지연 (국내특허 출원 제 2001-61697호) 및 산화적 손상에 의한 간 및 신장의 손상을 예방하는 기능이 있음을 밝힌 바 있다(국내특허 출원 제 2002-79402호). 피니톨은 대두 및 여러 가지 원료로부터 본 발명자들이 완성한 방법에 의하여 경제적으로 생산할 수 있다(국내특허출원 제2001-0016111호, 제2001-0044677호, 제 2001-0072510호).

<15> 카이로이노시톨은 피니톨을 강한 산성 조건에서 분해하여 제조하는 피니톨의 유도체로서 피니톨과 동일한 혈당강하효과를 나타내며, 피니톨이 체내에 흡수되면 카이로이노시톨로 분해 되는 것으로 알려져 있다(미국특허 제 5550166호). 그러나, 피니톨 또는 카이로이노시톨이 당뇨병과 상관없이 간기능을 개선하는 효과가 있다는 사실은 아직 어디에도 발표된 바가 없었다. 본 발명자들은 피니톨 또는 카이로이노시톨이 포함된 식이를 약물로 간손상을 일으킨 쥐에게 공급하여 간기능 회복의 지표로서 혈중의 GOT, GPT의 변화를 관찰하고 다음 단계로 지방간 환자들이 피니톨을 포함한 식이를 섭취한 후 GOT, GPT 및 γ GPT 개선상황을 조사함으로써 피니톨 또는 카이로이노시톨이 간기능의 개선에 효과적이라는 사실을 밝혀내었다.

- 16> 피니톨은 급성독성 연구 결과, 피니톨은 5,000 mg/kg의 용량으로 쥐에게 경구투여하였을 때 독성이 전혀 없는 것으로 밝혀졌다. 또한, 피니톨은 간을 비롯한 장기의 기능에 어떠한 부작용도 나타내지 않았다.
- 17> 지방간을 비롯한 간 질환을 나타내는 지표로서 흔히 혈액 중의 GOT, GPT 및 γ GTP를 사용한다. 실험동물에 적당한 농도의 사염화탄소를 주입하면 실험동물의 간 세포가 손상을 입어 GOT 및 GPT가 현저히 상승하게 된다. 이러한 방법으로 간에 손상을 입힌 동물에 피니톨을 다양한 농도로 투여하면 손상이 입은 간 세포가 치유가 되고 그 결과 상승되었던 GOT 및 GPT 농도가 빠른 속도로 정상 수치 부근까지 회복되는 것을 볼 수 있었다. 정상쥐에서 65 IU/L 이었던 GOT농도는 사염화탄소 처리에 의하여 10배 가까이 급격하게 높아졌다. 이러한 상태에서 체중 Kg 당 5 내지 20 mg의 피니톨을 경구투여받은 쥐들은 50 내지 73%의 유효율로 GOT농도가 현저히 낮아졌다. GPT 또한 GOT와 비슷한 경향을 보여 줌으로써 피니톨의 섭취가 간세포의 손상을 치유하는 효과가 있음을 나타내었다. GOT 및 GPT의 감소정도는 5 내지 20 mg/Kg의 범위 내에서 피니톨의 투여량에 비례하는 경향을 보여주었으나 5에서 10 mg/Kg으로 투여량을 늘릴 경우에 비하여 10에서 20 mg/Kg으로 투여량을 늘린 경우에는 GOT 및 GPT의 감소정도가 현저히 낮아지는 결과를 보여주었다. 카이로이노시톨도 피니톨과 거의 유사한 간기능 개선 효과를 보여주었다.
- 18> 따라서, 본 발명은 간 질환의 예방 및 치료를 위한 식품학적 또는 약리학적 조성물 제조에 피니톨, 카이로이노시톨 및 이들 화합물을 함유하는 추출물로 구성된 군으로부터 선택된 1가지 이상의 성분을 사용하는 방법을 제공한다. 특히, 본 발명자들이 조사한 바에 따르면 약콩, 속청, 대두, 콩잎, 대두배아, 탈지대두, 두부순물, 대두 올리고당, 대두 콩각지, 콩나물, 솔잎, 솔순, 소나무 속껍질, 케첩 등으로부터 회수한 추출물들은 피니톨 및 카이로이노시톨 화합

물을 다량 함유하고 있기 때문에 본 발명의 기술적 사상에 따라 이들 화합물들을 함유하는 추출물들도 피니톨이나 카이로이노시톨과 함께 또는 단독으로 간 질환의 예방 또는 치료에 이용될 수 있음을 시사한다. 구체적으로는 본 발명자들의 예비적 실험 및 검증실험에서도 이들 화합물을 다량 함유한 것으로 확인된 대두 추출물과 케첩 추출물이 순수 단일 화합물인 피니톨 및 카이로이노시톨과 마찬가지로 GOT, GPT를 낮추는 활성이 나타났다. 그렇기 때문에, 본 발명 간 질환 예방 또는 치료용 조성물은 피니톨, 카이로이노시톨 및 이들 성분을 함유하는 추출물로 구성된 군으로부터 선택된 한 가지 이상의 성분을 유효량으로 포함할 수 있다.

- 19> 전술한 바와 같이 본 발명에 앞서서 여러 발명자들에 의하여 간기능 회복에 유익한 각종 천연물 유래의 조성물이 보고된 바 있다. 그런데 이 발명들에 언급된 천연물들을 조사해 본 결과 그 중에서 대두, 솔잎, 헛개나무 등 본 발명자들에 의하여 행하여진 별도의 연구에 의하여 피니톨의 함량이 높은 것으로 밝혀진 천연물들이 상당수 포함되어 있다는 사실을 알 수 있었다. 이 발명들에는 간기능 회복과 관련된 유효성분의 내용을 밝히지 않았거나 다른 것으로 밝히고 있으나 사실은 피니톨이 유효성분이었을 가능성이 높으며 이러한 사실들은 본 발명의 신뢰성을 뒷받침해주는 결과로 볼 수 있다.
- 20> 본 발명의 한 바람직한 실시예에 있어서, 피니톨의 간기능 개선 효과는 사람을 대상으로 한 간이임상시험에서 더욱 확실하게 밝혀졌다. 간장 질환으로 GOT 및 GPT가 상승된 사람들 15명을 대상으로 한 실험에서 이 환자들에게 1 내지 2개월 기간동안 피니톨을 복용시킨 결과 평균 40 내지 50%의 유효율로 GOT, GPT 및 γ GPT 농도가 개선되었다. 이들은 그 동안 다년간 여러 가지 방법으로 간 질환의 치료를 시도하였으나 별다른 차도가 없었던 사람들이었으므로 피니톨의 효능이 기존에 개발된 약제들보다도 더욱 우수하다는 사실을 나타낸다.

21> 피니톨이 체내에서 어떠한 메카니즘으로 간 기능을 개선하는지는 밝혀지지 않았다. 그러나 본 발명자들이 피니톨의 당뇨합병증 예방 및 치료 효과를 입증하기 위하여 실시한 실험에 의하면 당뇨병의 발병에 의하여 감소하였던 간에서의 글루타치온(glutathione) 농도가 피니톨의 투여에 의하여 정상치에 가까이 회복되었음을 보여주었다. 글루타치온은 체내의 비효소적 항산화 방어계의 하나이며 산화적 손상으로부터 세포를 보호하는데 있어 중요역할을 하는 것으로 간주된다. 글루타치온은 단백질 및 DNA 합성, 물질전달, 효소반응, 신진대사, 그리고 free radical에 의한 손상으로부터 세포를 보호해주는 등 여러 가지 중요한 생체현상에 직간접적 관련이 되어 있는 것으로 알려져 있다. 글루타치온은 대부분 간에서 생성이 되는데 글루타치온의 결핍은 free radical의 과잉현상을 유발하고 이에 따라 세포의 손상, 지질 과산화, 독성물질의 축적, 그리고 궁극적으로는 세포의 사멸로 이어진다. 글루타치온은 간장질환 치료용 약제의 하나로서 통용되고 있다. 이러한 사실들은 글루타치온의 증가가 피니톨의 간기능 개선 메카니즘의 하나일 가능성을 시사해 주고 있다. 카이로이노시톨도 피니톨보다는 약간 낮으나 유사한 방법으로 간에서의 글루타치온 농도를 증가시켜 주었다.

22> 본 발명의 한 바람직한 구현예에 있어서, 피니톨을 유효성분으로 함유하는 간 질환의 예방 및 치료용 조성물은 목적하는 바에 따라 비경구 투여하거나 경구투여할 수 있으며, 피니톨이 하루에 체중 1 kg당 0.1 내지 100 mg, 바람직하게는 5 내지 20 mg의 양으로 투여되도록 1 내지 수회에 나누어 투여할 수 있다. 특정 환자에 대한 투여용량 수준은 환자의 체중, 연령, 성별, 건강상태, 식이, 투여시간, 투여 방법, 배설율, 질환의 중증도 등에 따라 변화될 수 있다.

23> 보다 구체적으로, 약리제제의 경우 통상 사용되는 충전제, 증량제, 결합제, 습윤제, 붕해제, 계면활성제, 윤활제 등의 희석제 또는 부형제를 사용하여 조제할 수 있으며, 약리제제의

형태는 치료 목적에 따라 다양하고 대표적인 것으로 정제, 환제, 산제, 액제, 현탁제, 유제, 과립제, 캡슐제, 좌제, 주사제 등을 들 수 있다. 약리학적 조성물 형태로 제조한 간 질환을 예방 또는 억제하기 위한 약리제제의 투여방법은 특별히 한정되지 않으며, 일반적으로 약학적으로 공지된 허용 가능한 방법을 통하여, 예컨대 경구투여, 정맥 내 주사, 피하주사 등과 같은 투여방법에 의해 전신적으로 또는 국부적으로 투여될 수 있다. 이 때의 투여량은 특정한 동물 또는 환자의 연령, 체중, 치료할 증상, 원하는 치료효과, 투여방식, 치료기간 등에 의존하여 변화할 수 있다는 것은 당업자라면 충분히 이해하고 있다. 한 바람직한 투여형태에 있어서, 식수에 용해된 형태를 통한 경구투여 방법을 포함하며, 이 때 식수는 유효성분인 피니톨 및/또는 카이로이노시톨을 수용액에 용해시킴으로써 제조되거나, 또는 고체 및 그 고체를 용해시켜 즉석 사용제제를 만들기 위한 용액의 조합으로서 제조될 수 있다. 사용 형태나 방법이 어떠한 것이든 간장 질환으로 GOT 및 GPT가 상승된 환자들에게 피니톨을 복용시킴으로써 간 기능을 개선시켜 결국 간장 질환을 예방 또는 치료할 수 있는 피니톨 및/또는 카이로이노시톨의 용도에 근거한 방법이다.

- 24> 또한, 간 질환을 예방 또는 치료할 목적으로 보다 복용이 쉽고 편리하게 식용할 수 있는 형태로 카이로이노시톨 및/또는 피니톨을 기능성 물질로 첨가한 건강보조식품 및 건강음료 등의 제조에도 사용할 수 있다. 상기 건강보조식품 및 건강음료는 카이로이노시톨 또는 피니톨을 함유한 대두가공물을 그대로 원료로 하거나 대두가공혼합물 또는 케첩에 들어 있는 이들 카이로이노시톨 또는 피니톨 성분만을 분리 또는 추출하고 농축하여 혼합하는 방법으로 가공한 식품, 예컨대 상기한 물질들 단독 또는 이들 두 혼합물을 유효성분으로 포함하는 각종 식품류, 육류, 음료수, 초코렛, 스낵류, 과자류, 피자, 라면, 기타 면류, 껌류, 아이스크림류, 알콜음

료류, 비타민 복합제, 건강기능식품음료, 양념이나 조미료, 사탕, 우유, 요쿠르트 등과 같은 식이 가능한 형태의 모든 식품을 포함한다. 특히, 본 발명 카이로이노시톨 또는 피니톨은 당뇨병 합병증과 관계없이 간 기능 손상으로 인해 정상인들보다 혈중 GOT, GPT 및 γ GPT 농도가 증가한 사람들의 간 기능 개선효과가 있기 때문에 당뇨병 환자뿐 만 아니라 간질환자들의 식이제에 매우 유용한 성분이 될 수 있어, 대두 또는 케롭 등 이들 화합물들을 많이 함유한 원료로부터 추출 농축한 이들 성분을 식품 또는 음료에 혼합하여 기능성 유효성분을 보강할 수도 있다.

25> 무엇보다, 본 발명의 유효성분인 카이로이노시톨 및 피니톨은 안전하고 또한 부작용이 거의 없는 것을 특징으로 하고 있기 때문에, 사용량이 비교적 자유롭게 정하여질 수 있을 것이다.

26> 이하 본 발명을 다음과 같은 실시예에 의하여 더욱 상세하게 설명하고자 한다. 단, 다음의 실시예는 본 발명을 예시하기 위한 것일 뿐, 본 발명의 범위가 하기 실시예에 의해 한정되는 것은 아니다.

27> 실시예 1 : 사염화탄소(CCl_4)로 간손상을 일으킨 랫트에 미치는 영향

28> 피니톨 또는 카이로이노시톨 투여시의 간세포 재생능력을 알아보기 위하여 다음과 같이 동물실험을 하였다. 실험동물로는 체중 190 g 전후의 스프라그-돌리(Sprague-Dawley)계 랫트(rat)를 공급받아 항온, 항습이 유지되는 동물사육실에서 일주일 이상 적응시킨 후 일반상태를 관찰하여 외관상 건강한 동물을 선별하여 실험에 사용하였다. 위의 실험동물을 각군당 10마리씩 임의로 다음과 같은 8군으로 나누었다.

29> 제1군: 정상대조군

30> 제2군: 대조군

31> 제3군: 피니톨 5 mg/Kg체중 투여군

32> 제4군: 피니톨 10 mg/Kg체중 투여군

33> 제5군: 피니톨 20 mg/Kg체중 투여군

34> 제6군: 카이로이노시톨 5 mg/Kg체중 투여군

35> 제7군: 카이로이노시톨 10 mg/Kg체중 투여군

36> 제8군: 카이로이노시톨 20 mg/Kg체중 투여군

37> 제1군을 제외한 각군에 실험 첫 번째 날과 다섯 번째 날에 사염화탄소(CCl_4)를 5ml/kg의 용량으로 체중에 따라 피하주사하였다. 실험 두번째날부터 제3~8군에는 피니톨 또는 카이로이노시톨을 10mL의 식수에 녹여 실험동물의 Kg체중 당 각각 5~20mg 씩 경구투여하였다. 제1군(정상대조군) 및 제2군(대조군)에는 각각 동량(10mL)의 증류수를 투여하였다. 각군에서 시험약제 및 증류수는 8 일간 투여하였다. 여덟번째 날에 실험동물의 안와정맥총으로 부터 혈액을 채취하여 혈액분석기를 사용하여 혈청GOT, 혈청GPT 및 γ GTP를 측정하였다.

38> 【표 1】

사염화탄소로 간 손상을 일으킨 랫트의 GOT 및 GPT에 대한 피니톨 및 카이로이노시톨의 영향

시험군		개체수	GOT		GPT	
			IU/L	유효율 (%)	IU/L	유효율 (%)
제1군	정상대조군	10	85± 8		30± 7	
제2군	대 조 군	10	522± 48		259± 22	
제3군	피니톨 5 mg/Kg 군	10	298± 28	49.7	134± 7	54.6
제4군	피니톨 10 mg/Kg 군	10	188± 22	73.4	92± 5	72.9
제5군	피니톨 20 mg/Kg 군	10	192± 17	72.6	75± 4	80.3
제6군	CI 5 mg/Kg 군	10	321± 35	44.0	156± 12	45.0
제7군	CI 10 mg/Kg 군	10	205± 28	69.4	80± 9	78.2
제8군	CI 20 mg/Kg 군	10	174± 26	76.1	88± 7	74.7

$$\text{유효율(\%)} = 100 - (\text{피니톨군-정상군})/(\text{대조군-정상군}) \times 100$$

- 39> 상기 표 1 에 기재된 실험결과에서 보는 바와 같이, 사염화탄소에 의해 간손상을 일으킨 대조군에서는 GOT 및 GPT가 크게 높아져서 정상군과 현저한 차이를 나타내었다. 피니톨군은 5~20 mg/Kg 투여시 혈중 GOT 및 GPT 농도를 각각 49.7~72.6%와 54.6~80.3%의 유효율로 유의적으로 낮추어 주는 효과를 보여주었다($P < 0.01$). 한편 카이로이노시톨군은 5~20 mg/Kg 투여시 혈중 GOT 및 GPT 농도를 각각 44.0~77.1 %와 45.0~78.2 %의 유효율로 유의적으로 낮추어 주는 효과를 보여주었다. ($P < 0.01$)
- 40> 실시에 2 : 피니톨의 경구독성실험
- 41> 6 주령의 특정 병원체 부재(specific pathogens free) Sprague-Dawley 중 랫트로서 체중 130~147 g의 암컷 15마리와 체중 110~123 g의 수컷 15마리를 온도 $23 \pm 3^{\circ}\text{C}$, 습도 $55 \pm 15\%$, 조명 12L/12D의 동물실내에서 사육하였다. 마우스는 실험에 사용되기 전 1주일간 순화시켰다. 사료는 방사선 조사로 멸균된 실험동물용 고형사료(Harlan, 미국)를 자유섭취시켰다.
- 42> 피니톨을 주사용 생리식염수에 녹인 후, 랫트 체중 당 5,000 mg씩 1회 경구 투여하였다. 투여방법은 동물을 경배부 피부고정법으로 고정하고 금속제 경구 투여용 존데를 이용하여 위내에 직접 주입하였다. 전체 동물에 대하여 매일 1회 이상 2주간 증상관찰을 하였다. 단 투여 당일에는 투여 후 6시간까지 매시간 관찰하였다. 또한 모든 동물에 대하여 투여 전 투여 후 1, 3, 7 및 14 일째의 체중을 측정하였다. 계획도살 시까지 생존한 동물들에 대해서는 에테르 마취로 동물을 절박 도살 시킨 후 모든 장기에 대한 육안적인 부검소견을 관찰하였다. 본 실험 결과 피니톨의 최소치사량은 암수 모두에서 5,000 mg/Kg을 훨씬 상회하는 것으로 관찰되었다. 피니톨 투여 이후의 체중 변화에서는 전 투여 용량군에서 암수 모두 정상적인 성장이 관찰되었다. 결론적으로 피니톨의 랫트에 대한 단회 경구투여 독성시험에서 유의성있는 독성증상은 관찰되지 않았고 최소치사량은 5,000 mg/Kg을 상회할 것으로 판단되었다.

43> 실시예 3 : 간기능 개선 효과가 있는 식물들 중의 피니톨 함량

44> 국내에 서식하는 130여종의 식물 및 식품소재에 대하여 그 중의 피니톨 함량을 조사하였다. 먼저 각 시료들을 입수하여 충분히 건조 후 분쇄를 하였다. 그리고 분쇄된 시료의 무게를 달고 100배 부피의 증류수를 이용하여 충분한 시간동안 시료 중의 수용성 성분들을 추출하였다. 피니톨의 함량은 HPLC로 측정하였다.(Dionex Carbpak MA-1 column) 그 결과 표 2에 표시된 식물들 중에만 상당한(1g/Kg 이상) 량의 피니톨이 함유되어 있었다. 나머지 식물 들 중에는 대부분 0.1g/Kg이하의 미량의 피니톨만 검출되었다.

45> 【표 2】

간기능 개선 효과가 있는 것으로 보고된 천연물 중의 피니톨 함량

천연물 명	피니톨 함량(g/Kg)
대 두	4.4
솔 잎	6.7
헛개나무	4.0
가시오가피	4.8

46> 실시예 4 : 간에서의 글루타치온 함량에 대한 피니톨의 영향

47> 생후 7주된 Sprague-Dawley종 숫쥐를 서울대학교 실험 동물 사육장에서 공급받아 플라스틱 cage에 수용하여 1주간 일반 고형사료와 물을 주면서 환경에 적응시켰다. 8주령이 되었을 때 무작위로 추출하여 streptozotocin으로 당뇨를 유도한 백서(D)와 당뇨를 유도하지 않은 백서(N)로 나누었다. 당뇨 유도 3일 후, 당뇨군과 정상군을 다시 대조군(C)과 피니톨 투여군(P) 및 카이로이노시톨(I) 투여군의 6군으로 나누어 4주간 사육하였으며 각 군은 12-15마리로 하였다. 4 주 동안 매일 오전 10:00-11:00 사이에 존대(zondae)를 사용하여 대조군에게는 식수를, 실험군에게는 식수에 녹인 피니톨을 10 mg/Kg 체중의 수준으로 경구투여 하였다.

- 48> 선택적으로 췌장의 베타 세포를 파괴하여 인슐린 결핍을 유도하여 당뇨를 유도하는 화학 물질인 스트렙토조토신(Streptozotocin)을 이용하여 당뇨를 유도하였다. 실험동물이 생후 7주가 되었을 때, 18시간 금식시킨 후 0.01M citrate buffer(pH 4.5)에 스트렙토조토신(Sigma Chemical Co., USA)을 45mg/Kg 체중이 되도록 녹인 후 10분 이내에 복강에 1회 주사하여 당뇨를 유도하였다. 당뇨 유도 3일 후 꼬리의 정맥혈을 취하여 비공복 혈당이 251.47mg/dl 이상인 경우에만 당뇨로 분류하였다. 혈당은 쥐 꼬리정맥에서 혈액을 취해 혈당 감지기 (Blood glucose sensor, Medisense 2, Medisense, Inc., Waltham, MA, USA)를 사용하여 측정하였다.
- 49> 실험동물을 희생시키기 전 18시간 금식시킨 후, 마취직전에 공복 시 혈당과 체중을 체크하였다. Ethylether로 마취시킨 뒤 개복하여 복대동맥을 통해 혈액을 채혈하고, 간은 적출하여 차가운 생리식염수에 세척 후 흡수지로 물기를 제거하고 무게를 측정하였다. 이들은 전처리 과정을 거쳐 화학분석을 할 때까지 -80℃에 냉동보관하였다. 혈액 중 일부의 전혈은 EDTA tube에 담아 충분히 혼합한 뒤 냉장 보관하여 HbA1c분석에 사용하였다. 나머지 전혈은 즉시 3000rpm, 4℃에서 15분간 원심분리하여 혈청을 분리한 후 -80℃에서 냉동 보관하였다.
- 50> 신장과 간의 균질액 중의 글루타치온 함량을 Ellman(1959)의 방법으로 측정하였다. 상층액 0.5ml 에 0.3M sodium phosphate buffer 4ml, DTNB용액 0.5ml을 가하여 혼합한 후 410nm에서 흡광도를 측정하였다. DTNB용액은 1% 시트르산나트륨(trisodium citrate) 용액에 녹여서 사용하였으며 표준용액으로는 글루타치온(glutathione; Sigma, USA)를 사용하였다.
- 51> 표 3에 간에서의 글루타치온 함량을 나타내었다. 간에서의 글루타치온 함량은 당뇨대조군인 DC군이 정상대조군인 NC군에 비해 38% 수준까지 현저히 감소하였으나, 피니틀을 투여한 DP군은 정상군의 96% 수준까지, 카이로이노시틀을 투여한 DI군은 85% 수준까지 회복되었다.

52> 【표 3】

간에서의 글루타치온 함량에 대한 피니를 및 카이로이노시들의 투여효과

구 분		글루타치온 농도 (μ mole/g tissue)	상대치
정상군	NC	17.09 ± 0.77	100
	NP	12.93 ± 0.05	
	NI	11.59 ± 0.74	
당뇨군	DC	6.51 ± 1.50	38.1
	DP	16.38 ± 2.43	95.8
	DI	14.52 ± 0.57	85.0

53> 실시예 5 : 간 질환의 예방 및 치료용 조성물 및 제제의 제조

54> 혈청GOT 또는 GPT가 50 IU/L 이상인 성인 15명(남 7, 여 8)을 선발하여 일상적인 생활을 유지하면서 하루 600 mg의 피니를 2개월간 경구투여하였다. 피니들은 300 mg씩 캡슐에 넣어서 아침 저녁 식전에 1정씩 복용시켰다. 표 4는 시험에 참여한 15인의 평균 신체조건이다.

55> 【표 4】

피니들의 간임상에 참여한 사람들의 평균 신체조건

나이	BMI (Kg/m ²)	Body fat (%)	혈압 (mmHg)	GOT (IU/L)	GPT (IU/L)	γ GTP (IU/L)
51 \pm 1.8	24.1 \pm 0.4	29.0 \pm 1.0	85.8-136.3	57.4 \pm 10.6	89.6 \pm 22.3	140.2 \pm 31.1

56> 표 5는 피니를 투여 전후의 간기능 관련 지표들의 평균치이다. 피니를 2개월간 복용한 결과 GOT는 평균 57.4 IU/L에서 31.4 IU/L로 45.3%, GPT는 평균 89.6 IU/L에서 43.2 IU/L로 51.8%, γ GTP는 140.2 IU/L에서 82.6 IU/L로 41.1% 감소하였다.

57>

【표 5】

피니톨의 간기능 개선 효과

구분	복용 전	복용 후	감소율(%)
GOT	57.4± 10.6	31.4± 3.0	45.3
GPT	89.6± 22.3	43.2± 8.1	51.8
γ GTP	140.2± 31.1	82.6± 17.5	41.1

(복용량: 600 mg/일, 복용기간: 2개월, 단위: IU/L)

【발명의 효과】

- 58> 이상 살펴본 바와 같이, 피니톨 또는 카이로이노시톨을 포함하는 본 발명의 조성물은 동물이나 사람에게 투여되었을 때 혈청 GOT, GPT 및 γ GTP의 농도를 강하시키므로 각종 간 질환의 예방 및 치료제로서 유용하게 사용될 수 있는 매우 뛰어난 효과가 있다.

【특허청구범위】**【청구항 1】**

피니톨, 카이로이노시톨 및 이들 성분을 함유하는 추출물로 구성된 군으로부터 선택된 한 가지 이상의 성분을 유효량으로 포함하는 간 질환 예방 또는 치료용 식품학적 또는 약리학적 조성물.

【청구항 2】

제 1 항에 있어서, 간 질환의 예방 또는 치료효과가 간 질환으로 인해 증가한 혈청 GOT, GPT 및 γ GTP의 농도의 감소로 나타날 수 있는 것임을 특징으로 하는 조성물.

【청구항 3】

간 질환의 예방 및 치료를 위한 식품학적 또는 약리학적 조성물 제조에 피니톨, 카이로이노시톨 및 이들 성분을 함유하는 추출물로 구성된 군으로부터 선택된 한 가지 이상의 성분을 사용하는 방법.